

Hardy
1900

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE CHIMIQUE
DE
L'ECHINOPHORA SPINOSA L.

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant l'Ecole supérieure de Pharmacie de Montpellier

Le 14 Février 1908

PAR

J. HARDY

PHARMACIEN DE PREMIÈRE CLASSE

LAURÉAT DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Pour obtenir le Diplôme de Docteur de l'Université de Montpellier

(MENTION PHARMACIE)

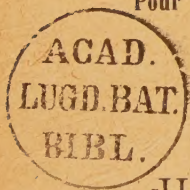
JURY : { MM. MASSOL, *directeur, Président.*
ASTRE, *Professeur.*
TARBOURIECH, *Agrégé.*

MONTPELLIER

IMPRIMERIE GUSTAVE FIRMIN, MONTANE ET SICARDI

Rue Ferdinand-Fabre et quai du Verdanson

1908



Ecole Supérieure de Pharmacie de Montpellier

Professeurs

MM.

G. MASSOL (I. P. ☉), directeur . .	<i>Physique.</i>
L. COURCHET (I. P. ☉)	{ <i>Histoire naturelle des médicaments. Botanique.</i>
C. ASTRE (I. P. ☉)	
L. PLANCHON (I. P. ☉)	<i>Chimie générale.</i>
L. PLANCHON (I. P. ☉)	<i>Matière médicale.</i>
F. JADIN (I. P. ☉)	<i>Pharmacie.</i>
H. IMBERT (I. P. ☉)	<i>Chimie analytiq. et Toxicologie</i>
H. FONZES-DIACON (I. P. ☉) . .	<i>Chimie minérale.</i>

Cours complémentaires et auxiliaires

MM.

ASTRUC (A. ☉), chargé de cours . .	<i>Minéralogie et Hydrologie.</i>
GAUCHER (I. P. ☉), chargé de cours.	<i>Botanique cryptogamique.</i>
ASTRUC (A. ☉), chargé de cours . .	<i>Pharmacie galénique</i>
TARBOURIECH (A. ☉), chargé de c.	<i>Chimie biologique.</i>

Agrégés

MM. GAUCHER (I. P. ☉).
ASTRUC (A. ☉).
TARBOURIECH (A. ☉).

Secrétaire : IZARD (I. P. ☉).

NOTA. — L'École de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui lui sont présentées.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

Affectueux hommage de ma reconnaissance.

A Mlle M. DROCCOS, MA FIANCÉE

Faible gage de mon profond attachement.

A MON ONCLE ET A MA TANTE

MONSIEUR ET MADAME SILLARD

Témoignage de ma vive gratitude.

J HARDY

A MONSIEUR LE PROFESSEUR-AGRÉGÉ J. TARBOURIECH

*Avec l'assurance de mes sentiments
très reconnaissants.*

A MES MAÎTRES DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE
DE PHARMACIE

J. HARDY.

INTRODUCTION

L'*Echinophora spinosa* L. est une plante de la famille des Ombellifères, sous-famille des Apioïdées, tribu des Echinophorées.

« Elle est communément répandue sur tout le littoral méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu'en Syrie. C'est un sous-arbrisseau à teinte glauque, dont les rameaux, étalés tout d'abord sur le sable, deviennent plus tard ascendants. Son rhizome très épais et très long s'enfonce profondément dans le sol, ce qui permet à la plante de résister aux sécheresses de l'été. Ce rhizome porte à chaque nœud des racines adventives longues, très nombreuses, et des bourrelets circulaires correspondant aux cicatrices des écailles foliaires ; il possède un système sécréteur formé de canaux très nombreux, bien développés, présents même dans le liber, dans le parenchyme cortical et dans la moelle. Dans les cellules du parenchyme cortical, on voit de petits globules de graisse qui se colorent en rose par la teinture d'orcanette. » (1)

Il nous a paru intéressant d'apporter une contribution à la connaissance de la composition chimique de cette

(1) A. Pécout, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Montpellier 1907.

plante, que son abondance sur les rives méditerranéennes mettait à notre disposition en quantité relativement considérable.

Il ne nous a pas été possible cependant d'étudier toutes les matières dont M. A. Pécout a constaté l'existence dans l'*Echinophora spinosa*. La matière grasse, qui est l'une des substances les plus abondamment répandues dans le rhizome de cette plante, nous a particulièrement retenu et intéressé, par le nombre des produits chimiques définis que nous sommes arrivé à caractériser. Nous avons eu la bonne fortune d'y rencontrer, en particulier, un alcool à poids moléculaire élevé, que toutes ses propriétés physiques et ses réactions colorées placent dans le groupe des cholestérines végétales.

Nous avons essayé ensuite de déterminer les constituants principaux de l'essence isolée par M. A. Pécout. La petite quantité de matière dont nous avons pu disposer ne nous a pas permis d'en faire une étude aussi complète que nous l'aurions voulu. Nous sommes arrivé cependant à établir sa composition immédiate et à constater une assez grande analogie de ce produit avec d'autres essences de la famille des Ombellifères, et en particulier avec celle de la carotte.

Au cours de ce travail, nous avons eu l'occasion d'avoir recours à l'aide éclairée de M. le Directeur Massol, que nous assurons de notre profonde gratitude. Nous le remercions, en outre, du grand honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de cette thèse qui couronne nos études pharmaceutiques.

Limité à l'étude de la matière grasse et de l'essence de l'*Echinophora spinosa*, c'est-à-dire à celle de composés purement organiques, ce travail nous a permis d'ap-

précier pleinement l'enseignement si consciencieux et si documenté de M. le professeur Astre dont nous garderons le meilleur souvenir.

Nous ne saurions enfin trop remercier M. le professeur agrégé Tarbouriech des bons conseils dont il nous a comblé durant les trois années que nous avons passées dans son laboratoire, de ses attentions incessantes et de l'amitié qu'il nous a témoignée. C'est sous sa haute direction que nous avons poursuivi nos travaux ; qu'il daigne recevoir ici l'assurance de notre vive reconnaissance et de notre très grande sympathie.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE CHIMIQUE

DE

L'ECHINOPHORA SPINOSA L.

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE DE LA MATIÈRE GRASSE

Pour l'extraction de cette matière, nous avons suivi la méthode générale déjà employée par M. A. Pécout.

Les rhizomes brossés, coupés en tranches fines, séchés à l'étuve à basse température, et pulvérisés finement, ont été mis à digérer avec environ deux fois leur poids d'éther de pétrole, à la température ordinaire. L'éther de pétrole du commerce, de $D = 0.650$, avait été au préalable rectifié et nous ne nous sommes servi que du produit passant au dessous de 80° .

Au bout de quelques heures, l'éther de pétrole se colore en jaune paille, et l'intensité de coloration s'accroît, très peu du reste, durant les huit jours de macération pendant lesquels on agite fréquemment. Au bout de ce temps, le liquide qui surnageait le marc a été décanté et ce dernier épuisé, dans un lixivateur approprié, jusqu'à ce que le liquide recueilli passe totalement incolore. Le mélange

des liqueurs ainsi obtenues a été distillé au bain-marie et a laissé, comme résidu, la matière grasse.

Les diverses opérations effectuées ont confirmé le rendement déjà donné par Pécout, qui est de 3 % pour le rhizome sec et 0,55 % pour le rhizome frais.

Il est à remarquer que la matière grasse obtenue par cette méthode doit contenir, comme nous le montrerons plus loin, certains des principes de l'essence. C'est à ce mode d'obtention qu'il faut reporter vraisemblablement l'origine des hydrocarbures que nous avons caractérisés dans l'analyse de la matière grasse, ainsi que la couleur foncée de cette substance, et son odeur qui, comme l'a déjà signalé Pécout, rappelle nettement celle de l'essence.

Nous avons constaté, en outre, qu'en suivant rigoureusement la méthode décrite par Pécout, on obtenait un produit beaucoup moins consistant que le sien, et présentant l'aspect non point d'une masse butyreuse, mais seulement d'une huile fortement épaisse. Il est vraisemblable que cette différence tient à ce fait que la matière première a été récoltée à une époque différente de celle où le précédent auteur avait effectué la récolte de la sienne.

DÉTERMINATION DE LA DENSITÉ. — L'état demi-visqueux de la matière grasse ne nous a pas permis, pour cette détermination, l'usage de la balance de Mohr, qui est ordinairement employée dans ce but. Nous avons eu recours alors à la méthode du flacon qui nous a donné les résultats suivants, l'opération ayant été effectuée à la température de 15°, de manière à éviter toute correction ultérieure.

Tare du flacon vide.....	50 gr. — 40 gr. 5595
Poids du flacon plein d'eau distillée.....	50 gr. — 16 gr. 7890
Poids de l'eau distillée.....	23 gr. 7705
Tare du flacon vide.....	50 gr. — 40 gr. 5595
Poids du flacon plein de matière grasse.....	50 gr. — 17 gr. 3320
Poids de la matière grasse.....	23 gr. 2275

La densité est donc égale à $\frac{23.2275}{23.7705}$ c'est-à-dire à 0.9771.

— DÉTERMINATION DE L'INDICE DE RÉFRACTION. — A cause de la coloration intense de la matière grasse, telle qu'on l'obtient par le procédé ci-dessus, nous n'avons même pas essayé d'effectuer cette détermination au moyen de l'appareil classique de Ferdinand Jean et Amagat, qui n'aurait pu nous donner aucun résultat. L'appareil de Abbe, construit par Zeiss, ne nécessitant qu'une faible quantité de substance, nous a permis d'effectuer au contraire une détermination très exacte.

Cet indice a été trouvé égal à 1,5005 pour le jaune moyen.

EXAMEN CHIMIQUE DE LA MATIÈRE GRASSE

Avant d'essayer d'isoler les principes constitutifs de la matière grasse de l'*Echinophora spinosa*, nous avons cherché à établir quelques-unes des constantes ordinaires des corps gras, qui permettent d'en prévoir la composition générale et qui nous ont servi de guide dans la recherche des divers produits et en particulier dans celle des acides.

Nous nous sommes occupé d'abord de déterminer les constantes suivantes : Indice d'acidité ; indice de saponification de Köttstorfer ; indice d'iode ou de Hübl.

Nous avons pensé aussi à rechercher l'indice de Reichert-Meissl-Volny (acides volatils solubles) ; mais la quantité minime d'acides volatils, dont nous avons constaté la présence, nous a assuré du peu d'importance qu'aurait cette détermination.

INDICE D'ACIDITÉ

On sait que cette constante représente le nombre de milligrammes d'hydrate de potasse nécessaires pour saturer les acides gras libres de 1 gramme de corps gras.

Pour cette opération, on a placé, dans un verre de

bohème, une quantité de matière grasse voisine de 1 gr. 5, que l'on a additionnée d'environ 50^{cc} d'alcool préalablement neutralisé en présence de phénolphthaléine. Le mélange agité vigoureusement, pour solubiliser autant que possible le corps gras, a été additionné goutte à goutte d'une solution décimale de potasse jusqu'à neutralisation de la liqueur.

Cette opération a donné les résultats suivants :

Premier essai

Prise d'essai	1 gr. 293
Volume de sol. N/10 de KOH employé . . .	6 ^{cc} 2
Poids de KOH pour 1 gr. de matière grasse. .	0 gr. 02632
Indice d'acidité =	26.3.

Deuxième essai

Prise d'essai	1 gr. 613
Volume de sol. N/10 de KOH employé . . .	8 ^{cc} 0
Poids de KOH pour 1 gr. de matière grasse. .	0 gr. 02741
Indice d'acidité =	27.4.

Moyenne des deux résultats ci-dessus = 26,8.

Ce résultat indique que la matière grasse ne contient qu'une très petite quantité d'acides libres.

INDICE DE SAPONIFICATION DE KOTTSTORFER

L'indice de saponification de Kottstorfer représente la quantité d'hydrate de potassium exprimée en milligrammes nécessaire pour neutraliser la totalité des acides gras libres ou combinés dans 1 gramme de corps gras.

Pour effectuer cette détermination, on a placé dans un ballon une certaine quantité de matière grasse que l'on a mélangée avec un volume connu et en excès de solution alcoolique normale de potasse. Le ballon muni d'un réfrigérant à reflux a été chauffé au bain-marie bouillant pendant deux heures. Après refroidissement, on a déterminé au moyen d'une solution normale acide la quantité de potasse en excès, et on a établi par différence la proportion de sel qui avait servi à la saponification.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Premier essai

Prise d'essai.	4 gr. 2155
Volume de KOH norm.	25 cc.
Vol. de KOH norm. en excès	16 cc. 65
Différence.	8 cc. 35
	$8\ 35 \times 56$
Poids de KOH pour 1 gr. de matière	$= \frac{8\ 35 \times 56}{1000 \times 4,2155} = 0\ \text{gr.}\ 11092$
Indice trouvé	$= 110,92.$

Deuxième essai

Prise d'essai.	4 gr. 1427
Volume de KOH norm.	25 cc.
Vol. de KOH norm. en excès.	15 cc. 2
Différence	9 cc. 8
	9.8×56
Poids de KOH pour 1 gr. de matière	$= \frac{9.8 \times 56}{1000 \times 5,1427} = 0\ \text{gr.}\ 10671$
Indice trouvé	$= 106,71.$

Moyenne des deux résultats ci-dessus $= 108,8.$

Si l'on calcule, en acide oléique, le poids des acides correspondant à cette quantité de potasse, on trouve que

la matière grasse examinée contient environ 54 gr. 780/0 d'acides totaux. On verra plus loin que cette détermination coïncide assez exactement avec le dosage direct et pondéral des acides gras.

INDICE D'IODE.

Cette constante a été déterminée par la méthode de Hübl (1).

Un poids de matière grasse voisin de 0 gr. 30 a été placé dans une nacelle de porcelaine, et introduit dans un flacon à large ouverture contenant déjà 10 cc. de chloroforme, 20 cc. de solution d'iode à 25 gr. pour 500 cc. d'alcool à 95°, et 20 cc. de solution de bichlorure de mercure à 30 pour 500 d'alcool à 95°. Ce flacon a été abandonné pendant 2 heures à l'abri de la lumière, ainsi qu'un deuxième flacon contenant les mêmes quantités des mêmes substances que ci-dessus à l'exception de la matière grasse.

Au bout de 2 heures, on a ajouté dans chaque flacon 20^{cc} de solution d'iodure de potassium à 10 pour cent, 2^{cc} d'empois d'amidon et on a déterminé au moyen d'une solution décijnormale d'hyposulfite de soude, à 24 gr. 8 par litre, la quantité d'iode demeurée libre dans chaque flacon.

Les résultats obtenus sont les suivants :

(1) *Dingl. Polyt. Journ.* 253 (1884), 281.

	1 ^{re} essai	2 ^e essai	3 ^e essai
Prise d'essai.....	0,287	0,419	0,356
Volume de $S^2O^3Na^2$. N/10 ajouté au flacon témoin. {	71 ^{cc} 1	72 ^{cc} 3	71 ^{cc} 7
Volume de $S^2O^3Na^2$. N/10 ajouté au flacon conte- nant la matière grasse. }	40 ^{cc} 3	30 ^{cc} 1	33 ^{cc} 7
Différence	30 ^{cc} 8	42 ^{cc} 2	38 ^{cc} 2
Indice d'iode	132.80	127.91	136.27

Moyenne des 3 résultats ci-dessus = 132.32.

Le nombre relativement élevé qui représente l'indice d'iode pouvait donner à penser que les acides gras non saturés constitueraient la presque totalité des acides de la matière grasse. On verra, par les résultats de la séparation de ces corps, qu'il existe cependant dans la matière grasse de l'*Echinophora spinosa* une quantité appréciable d'acides saturés.

Comme, d'autre part, nous avons constaté dans cette matière grasse la présence d'une certaine quantité d'hydrocarbures aromatiques, provenant vraisemblablement de l'essence entraînée par l'éther de pétrole, on comprend que la présence de ces carbures terpéniques ait élevé dans une proportion notable le nombre de l'indice d'iode. C'est vraisemblablement à cette cause qu'il faut attribuer l'augmentation de cette constante par rapport aux acides réellement présents dans la matière grasse.

ANALYSE IMMÉDIATE DE LA MATIÈRE GRASSE

Dans le but de déterminer les constituants de la matière grasse de l'*Echinophora spinosa*, on a d'abord saponifié cette substance au moyen de la potasse alcoolique.

Pour cela, 30 grammes de la matière grasse ont été placés dans un ballon avec 300 cc. d'une lessive de potasse au dixième dans l'alcool à 95°. Le ballon est adapté à un réfrigérant à reflux et chauffé au bain-marie bouillant pendant une heure, en agitant fréquemment. Au bout de ce temps, la liqueur alcoolique n'est pas encore limpide; elle ne le devient jamais complètement, même en prolongeant de plusieurs heures la durée de la saponification.

La liqueur savonneuse encore chaude est versée dans environ 700 cc. d'eau et le mélange évaporé à moitié de son volume, de manière à enlever la plus grande partie de l'alcool. Le liquide restant, abandonné au refroidissement, constitue un produit trouble de couleur chamois surmonté d'une légère couche d'apparence huileuse et de couleur brune foncée. Il est épuisé, dans un entonnoir à séparation avec de l'éther sulfurique, jusqu'à ce que ce dernier cesse de se colorer et ne laisse aucun résidu à l'évaporation. On obtient ainsi une solution éthérée, fortement teintée de rouge, qu'on filtre et dont on enlève l'éther par distillation.

Le résidu, du poids de 5 grammes environ, qui pouvait contenir une certaine quantité de matière grasse insaponifiée, a été traité une deuxième fois, par environ 50 centim. cubes de lessive alcoolique de potasse au dixième et chauffé à reflux, au bain-marie bouillant pendant une demi-heure. L'alcool ayant été enlevé comme dans la première opération on a épuisé à l'éther la liqueur savonneuse. Celle-ci a été jointe au liquide aqueux provenant du premier épuisement à l'éther et le tout chauffé avec précaution pour le débarrasser de l'éther entraîné par la solution aqueuse.

La solution éthérée contenait, comme nous le montrons plus loin, un alcool phytostérique, souillé d'une petite quantité de matière grasse et d'hydrocarbures.

La liqueur savonneuse a alors été traitée au bain-marie par une solution d'acide chlorhydrique au dixième jusqu'à ce que l'on obtienne une réaction franchement acide. Il s'est ainsi formé au dessus de la liqueur aqueuse, une couche huileuse, qui par refroidissement s'est transformée en une masse peu consistante. Le tout a été jeté dans un entonnoir à séparation et totalement épuisé par de l'éther sulfurique.

La solution aqueuse renferme la glycérine.

Les liqueurs éthérées ont été mélangées, lavées à l'eau distillée jusqu'à ce que cette dernière ne précipite plus par le nitrate d'argent et séchées au sulfate de soude anhydre ; elles ont donné, après évaporation du dissolvant, les acides gras, du poids de 23 grammes environ.

Dans le but de savoir si ces acides gras sont constitués seulement par des acides saturés, ou par des acides non saturés, ou par un mélange d'acides saturés et non saturés, nous avons effectué sur cette matière, la détermination de l'indice d'iode.

L'opération a été conduite dans les mêmes conditions que pour la détermination de l'indice d'iode de la matière grasse, et nous avons obtenu les résultats suivants :

	1 ^{re} essa.	2 ^e essai
Prise d'essai.....	0,299	0,376
Volume de $S^2O^3Na^2$. N/10 } ajouté au flacon témoin. }	68 ^{cc} 4	68 ^{cc} 2
Volume de $S^2O^3Na^2$ N/10 } ajouté au flacon conte- } nant les acides gras. }	48 ^{cc} 4	44 ^{cc} 2
Différence	20 ^{cc}	24 ^{cc}
Indice d'iode.	84,94	81,06

ce qui donne comme indice moyen = 83.

Ce résultat montre que les acides gras examinés contiennent des acides non saturés. D'autre part, l'indice d'iode de l'acide oléique qui est représenté par le nombre le moins élevé étant de 90,07, le nombre ci-dessus indiqué montre qu'il y a à côté de ces acides non saturés une proportion à déterminer d'acides saturés.

Il y avait lieu par conséquent d'entreprendre la séparation et l'étude des acides gras.

SÉPARATION DES ACIDES GRAS

23 grammes des acides gras obtenus comme il est dit plus haut, ont été placés dans un ballon avec de la pierre ponce et de l'eau, dans le but d'entraîner par la vapeur les acides volatils. On a distillé pendant une heure. Le distillatum repris par de l'éther a donné, après évaporation de ce dernier, une quantité d'acides gras si minime qu'il a été impossible de les étudier ; leur acidité représentait environ 0 gr. 40 centigr. de potasse.

Les acides gras ont été repris par de l'alcool et neutralisés par environ six fois leur poids de solution alcoolique de potasse au dixième. On a obtenu ainsi une liqueur savonneuse d'un brun très foncé, qui a été additionnée d'acide acétique en très léger excès et ramenée à neutralisation à la phénolphthaléine par de la potasse.

Cette liqueur diluée dans deux fois son volume d'eau a été additionnée d'un excès de solution aqueuse d'acétate neutre de plomb au dixième pour précipiter les acides gras. Les sels de plomb qui se sont déposés sur les parois du ballon ont été lavés à trois reprises avec de l'eau bouillante, en ayant soin de laisser refroidir le liquide après chaque opération. Ces sels de plomb, préalablement desséchés, ont été alors chauffés au réfrigérant à reflux avec de l'éther. Dans ces conditions, les sels de plomb des acides non saturés passent en dissolution, tandis que ceux des acides saturés restent indissous. On a continué de chauffer jusqu'à ce que ces derniers se soient précipités sous forme de poudre brun clair.

Après refroidissement, la liqueur éthérée a été séparée par filtration et le résidu lavé par trois fois avec de l'éther.

Nous avons séparé ainsi les sels de plomb des acides gras saturés, les premiers à l'état de précipité, les seconds en solution.

EXAMEN DES ACIDES GRAS SATURÉS

Le précipité de sels de plomb des acides gras saturés que l'on vient d'obtenir a été mis en suspension dans environ 300 centimètres cubes d'eau distillée, placé dans un bain-marie bouillant et additionné d'acide sulfurique dilué au dixième, de manière à précipiter le plomb et mettre en liberté tous les acides gras. Ceux-ci surnagent la

liqueur aqueuse, on les extrait par l'éther qu'on lave avec de l'eau jusqu'à neutralité de cette dernière, on évapore le dissolvant, on pèse le résidu qui représente un poids de 6 grammes et on le dissout dans de l'alcool.

Sur cette solution alcoolique, on a effectué une précipitation fractionnée au moyen des sels de magnésie. On sait que, dans ces conditions, les acides gras saturés sont précipités à l'état de sel de magnésium, les acides les plus riches en carbone étant précipités les premiers. Pour cette opération, on a ajouté à la solution alcoolique primitive 5 centimètres cubes d'une solution alcoolique saturée d'acétate de magnésie. Il s'est formé un précipité qu'on a recueilli par filtration pour le séparer de la liqueur alcoolique. Cette liqueur a été additionnée à nouveau de 5 centimètres cubes de solution d'acétate de magnésie et de quelques gouttes d'ammoniaque. On a obtenu ainsi un nouveau précipité qui a été recueilli comme le précédent, et on a continué ce fractionnement jusqu'à ce que l'acétate de magnésie ne détermine plus aucune précipitation, même après addition d'ammoniaque.

On a ainsi obtenu 6 précipités différents.

Ces divers précipités ont été lavés à l'alcool, mis en suspension dans de l'eau, et décomposés au bain-marie par de l'acide chlorhydrique au dixième. Les acides mis en liberté dans chaque fraction ont été lavés à l'eau bouillante, soigneusement desséchés et finalement recristallisés dans l'alcool bouillant.

Les fractions 1 et 2, présentaient des points de fusion qui étaient respectivement de 62° et $61^{\circ}5$; l'acide palmitique ayant un point de fusion de 62° , on peut donc admettre que ces deux premières fractions sont constituées par de l'acide palmitique à peu près pur.

La fraction 3 fondait à $58^{\circ}5$; la fraction 4 à $53^{\circ}5$; la

fraction 5 à 53°. La fraction 3 est constituée par un mélange d'acides palmitique et myristique et les fractions 4 et 5 par de l'acide myristique à peu près pur.

Les fractions 1 et 2 représentaient un poids d'environ 2 grammes, et les fractions 4 et 5 environ 3 grammes.

Nous avons donc constaté par cette méthode, la présence de deux acides saturés qui sont l'*acide palmitique*, et l'*acide myristique*, et si nous nous reportons aux poids trouvés, nous concluons que la matière grasse contient environ 7 % d'acide palmitique et 12 % d'acide myristique.

EXAMEN DES ACIDES GRAS NON SATURÉS

La solution éthérée de sels de plomb des acides gras non saturés, obtenue page 20, a été agitée avec une quantité suffisante d'acide chlorhydrique au cinquième pour décomposer totalement les sels de plomb. Il s'est formé un précipité blanc de chlorure de plomb; les acides gras se sont dissous dans l'éther, et l'éther lavé à l'eau, jusqu'à cessation de précipité par le nitrate d'argent, a donné, par évaporation, les acides gras non saturés, du poids d'environ 15 grammes.

Ces acides constituent une masse liquide de couleur ambrée dont on a déterminé l'indice d'iode, la valeur plus ou moins grande de cet indice pouvant nous fournir des indications sur la nature des acides contenus dans ce mélange.

	1 ^{re} essai	2 ^e essai
Prise d'essai.....	0,328	0,380
Volume de $S^2O^3Na^2$ N/10 ajouté au flacon témoin. }	65 ^{cc} 4	65 ^{cc} 1
Volume de $S^2O^3Na^2$ N/10 ajouté au flacon conte- nant les acides gras . . }	34 ^{cc} 7	30 ^{cc} 2
Différence	30 ^{cc} 5	34 ^{cc} 9
	$\frac{30.5 \times 1.27}{0.328}$	$\frac{34.9 \times 1.27}{0.380}$
Indice d'iode.	117.8	116.6

Ces indices d'iode étant supérieurs à 90,07, indice d'iode de l'acide oléique, nous montrent que le mélange des acides gras non saturés examiné contient au moins deux de ces corps.

Pour séparer les uns des autres les acides non saturés, déjà isolés à l'état de sels de plomb par dissolution dans l'éther et mis ensuite en liberté, on peut utiliser deux méthodes, différentes en fait, mais reposant l'une et l'autre sur la possibilité de saturation de ces acides à liaisons multiples.

La première consiste à oxyder ces acides gras non saturés, qui fixent autant de groupes oxhydriles qu'il sont de valences non saturées dans leur molécule. On obtient, comme produits d'oxydation, des acides hydroxylés ou oxyacides possédant le même nombre d'atomes de carbone que les acides non saturés d'où on est parti.

Ce traitement s'effectue au moyen du permanganate de potasse à froid, et en solution alcaline suivant la méthode

établie par Hazura (1) et Grüsner, d'après leurs propres travaux et ceux de Saytzeff. On transforme ainsi l'acide oléique en acide dioxystéarique, l'acide linoléique en acide tétraoxystéarique ou sativique, l'acide linoléique en acide hexaoxystéarique ou linusique, l'acide isolinolénique en acide isolinusique que l'on sépare ensuite d'après leur solubilité dans l'éther et dans l'eau.

Cette méthode présente cet inconvénient que l'oxydation se poursuit généralement au delà de la formation des acides hydroxylés et nous avons craint qu'une partie des acides de notre produit ne nous échappât à cause de la quantité réduite de notre matière première. Il n'est pas douteux d'autre part que la séparation des acides hydroxylés portant sur d'aussi faibles quantités de matière eût été des plus laborieuses ; il nous a paru d'autant plus avantageux d'employer la deuxième méthode que plusieurs auteurs l'ont déclarée de beaucoup préférable pour la recherche des acides linoléique et linoléique.

Cette méthode due à J. Lewkowitsch (2), se base sur la solubilité plus ou moins grande dans divers dissolvants des dérivés bromés des acides non saturés, c'est-à-dire des bi, tétra et hexabromures.

Pour l'application de ce principe, les acides non saturés dissous dans l'éther ont été additionnés d'une solution éthérée de brome en léger excès. Le mélange qui s'échauffe notablement est refroidi par immersion dans de l'eau froide.

La réaction terminée, on a constaté qu'il ne s'était formé aucun précipité, ce qui indique l'absence d'acide *linoléni-*

(1) *Monatshefte f. Chemie* 1887, 147, 156, 260 ; 1889, 180, 190, 469, 478, 944, 947 ; 1889, 100.

(2) *Jahrbuch der Chemie*, 1898 (VIII), 402

que dont l'hexabromure est insoluble dans l'éther.

La solution étherée a alors été évaporée avec précaution jusqu'à siccité et le résidu repris par de l'éther de pétrole bouillant.

Une partie seulement du résidu passe en dissolution dans l'éther de pétrole qui, évaporé lentement, laisse déposer une quantité assez considérable de fines aiguilles blanches présentant les caractères suivants :

Le produit est facilement soluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, l'acide acétique et le benzène ; il est peu soluble dans l'éther de pétrole.

Son point de fusion déterminé au bloc de Maquenne est égal à 114-115. (Point de fusion de l'acide tétrabromostéarique, 113°-114°).

Le dosage du brome effectué par la méthode de Carius a donné les résultats suivants :

	1 ^{re} Opération	2 ^e Opération
Prise d'essai.	1,237	1,184
Poids de AgBr.	1,545	1,481
Br trouvé 0/0	53,14	53,22
Théorie pour $C^{18}H^{32}O^2Br^4$	53,33	53,33

Le poids moléculaire a été déterminé par la méthode cryoscopique en employant le benzène comme dissolvant.

Les résultats obtenus sont les suivants :

1^{re} Opération

Poids du benzène.	19,327	
Substance dissoute	0,5758	
Proportion du corps dissous 0/0	2,979	
Point de congélation du benzène employé	5° 32	
Point de congélation de la solution benzénique.	5° 07	
Abaissement du point de congélation.	0 25	
	$49 \times 2,979$	
Poids moléculaire.	$= \frac{\quad}{0,25} =$	583
Théorie pour $C^{18}H^{32}O^2Br^4$	$=$	600

2^e Opération

Poids du benzène.	15,427	
Substance dissoute	0,3276	
Proportion du corps dissous 0/0	2,123	
Point de congélation du benzène.	5°32	
— — — de la solution benzénique.	5°14	
Abaissement du point de congélation.	0,18	
	49 × 2,123	
Poids moléculaire	=	577
	0,18	
Théorie pour $C^{18}H^{32}O^2Br^4$	=	600

Le produit analysé est donc bien l'acide tétrabromostéarique et l'acide d'où il dérive est l'*acide linoléique*.

Comme son poids est d'environ 8 grammes, il correspond à environ 1 gramme d'acide linoléique et la matière grasse en contient environ 14 0/0.

La liqueur pétroléique qui montrait par sa coloration qu'une grande partie du produit était entrée en solution, a abandonné par évaporation un produit de consistance huileuse, soluble dans l'éther, la benzine, l'alcool, le chloroforme, l'acide acétique et l'éther de pétrole.

Le dosage du brome effectué par la méthode de Carius a donné les résultats suivants.

	1 ^{re} opération	2 ^{me} opération
Prise d'essai	1,892	1,505
Poids de Ag Br	1,602	1,276
Br trouvé %	36,03	37,07
Théorie pour $C^{18}H^{34}O^2Br^2$	36,18	36,18

Le poids moléculaire a été déterminé par la méthode cryoscopique et a donné les résultats suivants :

Première opération

Poids du benzène	17,201
Substance dissoute	0,325
Proportion du corps dissous %	1,889
Point de congélation du benzène	5°32
— — — — — de la sol. benz	5°11
Abaissement	0°21
	$49 \times 1,889$
Poids moléculaire	$\frac{\quad}{0,21} = 440$
Théorie pour $C^{18}H^{34}O^2Br^2$	$= 442$

Deuxième opération

Poids du benzène	20,812
Substance dissoute	0,523
Proportion du corps dissous %	2,512
Point de congélation du benzène	5°32
Point de congélation de la sol. benz	5°03
Abaissement	0°29
	$49 \times 2,512$
Poids moléculaire	$\frac{\quad}{0,29} = 424$
Théorie pour $C^{18}H^{34}O^2Br^2$	$= 442$

Ce produit est caractérisé par son aspect physique, sa teneur en brome et son poids moléculaire comme de l'acide dibromostéarique, dérivant par conséquent de l'acide oléique.

Son poids était de 17 grammes environ. Il représentait donc 10 grammes d'acide oléique, et la matière grasse en contient 31 0/0.

SÉPARATION DES MATIÈRES INSAPONIFIABLES

Les matières grasses végétales ou animales, les huiles et les graisses en particulier contiennent habituellement de petites quantités de matières insaponifiables dont la proportion est beaucoup plus élevée dans les cires. Ces matières insaponifiables sont, soit des alcools gras de poids moléculaire élevé, soit de la cholestérine ou de la phytostérine, ou encore des matières colorantes, des hydrocarbures et des substances résineuses ou protéiques.

Nous nous sommes préoccupé de savoir si les produits insaponifiables de notre matière grasse contenaient quelques substances susceptibles d'être caractérisées. La cholestérine et la phytostérine présentent du fait de leur solubilité dans l'alcool bouillant et de leur insolubilité presque complète dans le même dissolvant froid, une certaine facilité de séparation qui permet de tenter cette opération même avec de petites quantités de matière. C'est donc en vue de la recherche de ces produits que nous avons effectué les essais suivants.

La liqueur éthérée contenant les matières insaponifiables a été complètement débarrassée de l'éther par évaporation et on a ainsi obtenu une masse d'aspect cireux, de couleur brun foncé, et représentant une proportion de 15 0/0 de la matière grasse totale.

Pour débarrasser ce produit de la matière grasse qui pouvait ne pas être encore saponifiée, on le chauffe une deuxième fois, au bain-marie, avec une solution de potasse au dixième dans l'alcool à 95°. L'alcool est ensuite enlevé comme dans la première saponification et la liqueur savonneuse épuisée par l'éther. Par évaporation du dissolvant, il reste une masse plus consistante, onctueuse, fortement colorée en rouge brun et dont le poids a très sensiblement diminué.

Cette substance est reprise par de l'alcool bouillant, qui filtré, abandonne par refroidissement un corps nettement cristallisé, encore fortement coloré en brun, que son mode d'obtention caractérise déjà comme une phytostérine. On sépare par essorage à la trompe et on lave avec de l'alcool à 95° froid ce produit qui représente 1 gr. 568 0/0 de la matière grasse totale.

La liqueur-mère et les alcools de lavage sont mélangés et donnent un liquide de couleur brune très foncée : il renferme les produits insaponifiables autres que la phytostérine. Ces substances peuvent être soit des alcools aliphatiques, soit des carbures.

Pour séparer les uns des autres ces produits qui peuvent coexister dans la liqueur alcoolique, cette dernière est évaporée à siccité, et le résidu, additionné d'anhydride acétique, est chauffé au bain de sable à l'ébullition pendant demi-heure. Dans ces conditions les alcools gras qui pourraient se trouver dans le mélange, sont éthérifiés, tandis que les hydrocarbures forment à la surface de l'anhydride acétique chaud, une couche huileuse plus ou moins colorée. Nous avons constaté, en effet, la présence d'une certaine quantité de matière huileuse non combinée à l'anhydride acétique et nous pensons que ce sont là des carbures qui ne font pas partie intégrante de la ma-

tière grasse, mais qui proviennent de l'essence et dont la présence doit être attribuée au procédé employé pour l'extraction de la matière grasse.

Après avoir séparé par décantation cette couche huileuse, on a additionné d'une grande quantité d'eau la couche inférieure de manière à hydrater l'anhydride acétique qui n'avait pas réagi. Cette liqueur aqueuse a été épuisée par l'éther, la solution éthérée a été lavée à l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage, et finalement évaporée pour chasser le dissolvant. L'absence de tout résidu à la suite de cette opération a démontré qu'il n'y avait aucun alcool aliphatique dans la matière grasse de l'*Echinophora spinosa*.

ETUDE DE LA PHYTOSTÉRINE

La phytostérine ou cholestérine végétale est un alcool à point de fusion élevé, insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool bouillant, presque insoluble dans l'alcool froid. On lui attribue la même composition que celle de la cholestérine à laquelle elle se rattache, en outre, par de nombreuses réactions colorées que nous exposerons plus loin. Elle est abondamment disséminée dans le règne végétal et s'y trouve en quantité un peu plus grande que la cholestérine dans les graisses animales.

La connaissance de ce produit, de date relativement récente, a permis de penser qu'il existe vraisemblablement toute une série de composés de composition voisine ou identique, isomères ou isologues, présentant les mêmes réactions colorées et différant surtout entre eux par leur point de fusion ou celui de leurs éthers.

Le point de fusion de la phytostérine retirée pour la

première fois par Hesse de la fève de Calabar, est de $138^{\circ}5$. Le nombre accepté pour la cholestérine, bien que variable suivant les auteurs, est ordinairement de 148° . A cause des différences indiquées tant pour le point de fusion des diverses phytostérines que pour celui de la cholestérine, il est avantageux de caractériser ces produits par le point de fusion de leurs acétates qui oscille pour la cholestérine entre $114^{\circ}3$ et $114^{\circ}8$ et pour la phytostérine entre $125^{\circ}6$ et 137° .

Sur ces données, nous avons procédé à l'examen de notre substance.

Le produit que son mode d'obtention nous permettait de considérer comme une phytostérine, était encore légèrement teinté de brun. Pour le purifier davantage et le décolorer, on l'additionne d'environ la moitié de son poids de noir animal, et on fait bouillir le mélange avec de l'alcool pur.

L'alcool filtré bouillant laisse déposer par refroidissement la phytostérine, sous la forme de lames très blanches qui sont essorées à la trompe et séchées dans le vide.

Pour caractériser ce corps, nous avons effectué les réactions colorées communes aux phytostérines et à la cholestérine ; nous avons étudié ses propriétés physiques, déterminé son eau de cristallisation, recherché son poids moléculaire et préparé divers de ses éthers.

RÉACTIONS COLORÉES DE LA PHYTOSTÉRINE

1° *Réaction de Liebermann.* — Une petite quantité de phytostérine ou mieux d'acétate est dissoute dans l'anhydride acétique et additionnée de deux ou trois gouttes d'acide sulfurique concentré. Il se produit une belle coloration violette, devenant rapidement bleue, puis verte.

2° *Réaction de Hesse-Salkowsky.* — Quelques centigrammes de produit sont dissous dans 3 centimètres cubes de chloroforme et additionnés d'un égal volume d'acide sulfurique concentré. On agite et on abandonne au repos. L'acide sulfurique se colore peu à peu en rose puis en rouge cerise avec fluorescence violette.

3° *Réaction de Hirschsohn.* — La phytostérine chauffée avec un mélange d'acide trichloracétique et d'acide chlorhydrique (2 gouttes HCl + 1 gr. acide trichloracétique), produit une coloration rouge accompagnée d'une fluorescence violacée.

4° *Réaction de Tschugraeff.* — La phytostérine est dissoute dans l'acide acétique, additionné d'un excès de chlorure d'acétyle et d'un fragment de chlorure de zinc. Le tube qui contient le mélange est chauffé au bain-marie pendant cinq minutes. La liqueur se colore d'abord en rose, puis en rouge rubis avec fluorescence jaune brun.

Toutes ces réactions montrent bien que le composé examiné possède les caractères des cholestérines et des phytostérines.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES

Nous avons déjà indiqué que la phytostérine de l'*Echinophora spinosa* était insoluble dans l'eau et dans l'alcool froid. Elle se dissout dans l'alcool bouillant et dans tous les dissolvants organiques à l'exception de l'acétone.

M. J. Curie, qui a bien voulu examiner les cristaux de phytostérine obtenus par la méthode indiquée, a reconnu qu'ils appartenaient au système orthorhombique.

La détermination du point de fusion présentait un intérêt d'autant plus grand que la question a été agitée tout

récemment de savoir si les diverses substances à caractères de cholestérine et de points de fusion voisins, actuellement connues, constituaient une seule substance, ou si chacune d'elles est un produit particulier de propriétés extrêmement voisines, se différenciant les unes des autres par certains caractères physiques et en particulier, comme nous l'avons déjà dit, par leur point de fusion, ou celui de leurs éthers.

MM. A. Bloch et T. Klobb (1) font remarquer, en effet, que les divers phytostéroïls obtenus jusqu'à ce jour possèdent un point de fusion voisin de 135° , mais que les écarts, « sans être considérables, ne peuvent être négligés », et tendent à faire croire à la pluralité des alcools phytostériques. Cette question demandait à être éclairée par des expériences nouvelles.

Nous avons donc déterminé avec le plus grand soin le point de fusion de la phytostérine nouvelle obtenue par nous, et nous avons constaté qu'il se trouvait exactement à 148° . De ce fait que ce point de fusion est notablement plus élevé que ceux des principaux alcools phytostériques connus jusqu'à ce jour, il semble résulter qu'il s'agit bien d'une individualité chimique nouvelle, et l'hypothèse de la diversité des cholestérines végétales paraît y trouver un sérieux argument (2).

(1) *Bulletin des Sciences Pharmacologiques*, avril 1907, p. 190.

(2) Il faut signaler ici que MM. A. Windaus et A. Hauth (*Ber. des Deutsch. Chem. Gesell.*, 1906, 4378) ont réussi il y a quelque temps à dédoubler la phytostérine de la Fève de Calabar, déjà obtenue par Hesse, en deux alcools phytostériques, dont l'un fond à 136° - 137° , tandis que le deuxième ne fond qu'à 170° . Ils ont donné à ce dernier le nom de *Slygmastérine*.

Détermination de l'eau de cristallisation

On sait que la phytostérine, de même que la cholestérine, cristallise avec une molécule d'eau. Nous avons donc cherché à déterminer la perte de poids de la substance à 100° et nous avons obtenu les résultats suivants :

Prise d'essai.....	0,9188
Perte à 100°.....	0,041
— 0/0.....	4,462

La perte de poids est donc de 4 gr. 462 pour cent ; la théorie indiquait 4 gr. 614 pour cent.

Détermination du poids moléculaire

Nous avons, comme précédemment, déterminé par la cryoscopie le poids moléculaire de cette substance, en opérant dans le benzène cristallisable.

Premier essai

Poids du benzène.	20 gr. 823
Substance dissoute	0 gr. 5655
Proportion du corps dissous dans 100 gr.	2 gr. 715
Point de congélation du benzène.	5°32
Point de congélation de la solution benz.	4°96
Abaissement	0°38

$$\text{Poids moléculaire} = \frac{49 \times 2,715}{0,38} = 365$$

Deuxième essai

Poids du benzène.	18 gr. 627
Substance dissoute.	0 gr. 5278
Proportion du corps dissous pour 100.	2 gr. 833
Point de congélation du benzène.	5°32
Point de congélation de la sol. benz.	4°94
Abaissement	0°38

$$\text{Poids moléculaire} = \frac{49 \times 2,833}{0,38} = 365$$

Théorie pour $\text{C}^{27}\text{H}^{46}\text{O} = 384$

Théorie pour $\text{C}^{26}\text{H}^{44}\text{O} = 372$

ETHERS DE LA PHYTOSTÉRINE

Acétate de phytostéryle. — 0 gr. 37 de phytostérine sont chauffés à l'ébullition avec 1 gramme d'anhydride acétique pendant deux heures. Par refroidissement, le mélange se prend en masse légèrement teintée de jaune et d'aspect cristallin. On a purifié le produit par redissolution dans l'alcool bouillant; par refroidissement, il se forme une masse cristalline qui est recueillie, lavée à l'alcool froid où cet éther est presque complètement insoluble, essorée et séchée dans le vide. L'acétate de phytostéryle se présente sous forme de lamelles nacrées, transparentes, solubles dans l'éther, le chloroforme, le benzène, le tétrachlorure de carbone, peu soluble dans l'acétone, presque insoluble dans l'alcool froid.

Après plusieurs purifications par dissolution dans l'alcool bouillant, il fond à 124°-125°.

Propionate de phytostéryle. — On l'a préparé en chauff-

fant 0 gr. 23 de phytostérine purifiée avec 0 gr. 50 d'anhydride propionique à l'ébullition pendant une heure.

Le produit solide obtenu par refroidissement est recueilli et purifié par la même voie que dans le cas de l'acétate. Il forme des lamelles blanches nacrées. Les caractères de solubilité sont sensiblement les mêmes que ceux de l'acétate.

Son point de fusion est 117° (1).

Benzoate de phytostéryle. — Ce produit a été obtenu en chauffant la phytostérine avec deux fois son poids de chlorure de benzoyle au bain d'huile vers 140° . Au bout d'une demi-heure, on reprend le produit par l'eau bouillante, qui est sans action sur l'éther benzoïque, on filtre et on sèche.

Le benzoate de phytostérine étant très peu soluble dans l'alcool bouillant, on le purifie, comme le propionate, par dissolution dans le tétrachlorure de carbone et précipitation par l'alcool. On le décolore enfin en le dissolvant dans l'éther sulfurique et agitant avec du noir animal. Après filtration et évaporation du dissolvant, on

(1) Dans une note publiée dans le *Bulletin des sciences pharmacologiques* en juillet 1907, p. 391, en collaboration avec M. J. Tarbouriech, nous avons indiqué comme point de fusion de ce produit la température 109° - 11° ; nous avons cru remarquer qu'après précipitation de sa solution dans le tétrachlorure de carbone par l'alcool, cette température s'abaissait à 105° . Depuis, nous avons examiné de près cette variation, et nous avons constaté qu'en régénérant la phytostérine du propionate et l'éthérifiant à nouveau par l'anhydride propionique, le point de fusion s'élevait à la température ci-dessus indiquée de 117° et restait invariable. Il est donc probable que le produit analysé en premier lieu était souillé de quelque impureté qui en abaissait le point de fusion.

recueille des lames très blanches d'aspect nacré, beaucoup moins solubles que les deux éthers précédents dans l'alcool bouillant et présentant vis-à-vis des autres dissolvants organiques les mêmes caractères de solubilité. Le benzoate de phytostéryle fond à 145° . Ce point de fusion est tout à fait voisin de ceux des éthers benzoïques des autres phytostérines connues, qui varient tous entre 141° et 147° .

RECHERCHE ET DOSAGE DE LA GLYCÉRINE

La glycérine existant à l'état d'éther dans tous les corps gras nous l'avons recherchée dans la matière grasse de l'*Echinophora spinosa*.

Dans ce but, la liqueur aqueuse restant après mise en liberté des acides gras et épuisement par l'éther a été évaporée à basse température jusqu'à un volume de 50 cent. cubes environ.

Ce liquide a été mélangé avec de la chaux éteinte pour en faire une bouillie claire, qui a été évaporée à siccité et à basse température.

On a alors épuisé le résidu par un mélange de 20 parties d'éther pour 100 parties d'alcool, et après avoir fait évaporer presque complètement le mélange éthéro-alcoolique au bain-marie, on a placé le récipient dans le vide où il est resté une dizaine de jours.

Le résidu avait une saveur sucrée. Chauffé avec deux fois son poids de bisulfate de potassium il a dégagé l'odeur pénétrante de l'acroléine.

Son poids était de 1 gr. 45, ce qui représente environ 5 % du poids de la matière grasse.

DEUXIÈME PARTIE

EXAMEN PHYSICO-CHIMIQUE DE L'ESSENCE

Nous aurions voulu effectuer de l'essence de l'*Echinophora spinosa* un examen plus complet que les circonstances ne nous l'ont permis. L'étude physico-chimique que nous présentons permet cependant de se faire une idée générale de ses caractères et de sa composition, puisque nous y avons constaté, en même temps que la présence de produits inattendus dans une plante de la famille des Ombellifères, son analogie assez grande avec des essences de plantes de la même famille.

La principale déception que nous avons éprouvée au cours de cette étude a été celle d'un rendement notablement inférieur à celui signalé par M. A. Pécout (1).

17 kilogr. 100 de rhizome frais ont été distillés à la vapeur d'eau, le distillat a été épuisé à l'éther sulfurique; ce liquide, desséché sur le sulfate de soude anhydre et évaporé avec précaution pour chasser le dissolvant, a laissé un résidu de 27 grammes d'essence. Les eaux-mères débarrassées de l'éther sulfurique par la chaleur, et reprises par l'éther de pétrole, bouillant au-dessous de 60°, n'ont rien abandonné

(1) Pécout; *loc. cit.*

à ce dissolvant. Le rendement est donc seulement de 0, 157 pour 100.

Cette essence est fortement colorée en brun foncé ; elle possède une odeur qui rappelle nettement celle de la carotte. Une goutte projetée dans l'eau distillée se sépare en deux parties ; une faible partie surnage l'eau, une plus grande partie tombe au fond de l'eau en formant un globe sphérique.

Maintenue dans un mélange réfrigérant à -15° pendant une demi-heure, elle ne se solidifie pas.

DÉTERMINATION DE LA DENSITÉ. — La petite quantité de matière rendant difficile l'emploi des balances aréothermiques, nous avons effectué cette détermination par la méthode du flacon.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Tare du flacon vide à 15°	50 — 40,5595
Poids du flacon rempli d'eau à 15°	50 — 16,7890
Poids de l'eau à 15°	23,7705
Tare du flacon vide à 15°	50 — 40,5595
Poids du flacon rempli d'essence à 15°	50 — 16,0455
Poids de l'essence à 15°	24,514
Densité de l'essence à 15° = 1,031.	

INDICE DE RÉFRACTION. — Comme pour la matière grasse, on a employé, pour cette détermination, le réfractomètre de Abbe, construit par Zeiss. La valeur trouvée pour cet indice à 15° a été de 1,518 pour le jaune moyen.

RÉACTION CHIMIQUE. — L'essence extraite par la méthode décrite ci-dessus est rigoureusement neutre aux réactifs colorants. Ce fait démontre en particulier l'ab-

sence totale d'acides libres que l'on rencontre assez fréquemment dans les essences naturelles.

RECHERCHE DU SOUFRE. — *Premier essai.* — Environ 2 grammes d'essence ont été chauffés avec un fragment de sodium sur un brûleur pendant quelques minutes. Le mélange additionné d'eau pour se débarrasser de l'excès de sodium, et traité par le nitroprussiate de soude, n'a pas donné la réaction des sulfures.

Deuxième essai. — 2 gr. 50 d'essence ont été chauffés en tube scellé avec de l'acide nitrique concentré à 150° pendant deux heures. Après refroidissement, le contenu du tube a été dilué dans l'eau distillée et additionné de chlorure de baryum ; il ne s'est formé aucun précipité de sulfate de baryte.

Les deux essais ci-dessus montrent que l'essence d'*Echinophora spinosa* ne contient pas de soufre.

RECHERCHE DE L'AZOTE. — *Premier essai.* — L'essence a été traitée comme dans le premier essai pour la recherche du soufre, et le produit de la réaction examiné au point de vue de la présence des cyanures. Le résultat a été négatif.

Deuxième essai. — Dans ce deuxième essai, l'essence a été attaquée suivant la méthode de Kjeldhal par l'acide sulfurique et l'oxalate de potasse. Le produit de la décomposition ne contenait pas de traces d'ammoniaque.

Ces deux résultats négatifs montrent que l'essence ne contient pas d'azote.

ACTION DE L'ACIDE AZOTIQUE FUMANT. — L'essence projetée goutte à goutte dans l'acide azotique fumant s'oxyde

violemment et s'enflamme même si on ne prend pas la précaution de refroidir le récipient dans lequel est fait le mélange.

Le produit de l'oxydation ménagée constitue un liquide brun qui, après chauffage et évaporation de la plus grande partie de l'acide azotique, possède une coloration jaune, analogue à celle de l'acide picrique. Ce liquide, évaporé à siccité, repris par l'eau et abandonné à la cristallisation, a laissé déposer au bout de quelques jours de longs cristaux incolores de plus d'un centimètre de longueur qui présentent à l'analyse les caractères de l'acide oxalique. En outre, l'oxydation de l'essence par l'acide azotique développe une odeur aromatique agréable rappelant assez nettement celle de la terpine.

Ces caractères permettent de penser que l'essence de l'*Echinophora spinosa* contient un ou plusieurs carbures du groupe des terpènes. Le fait est d'autant moins surprenant que M. Max Landsberg (1) a constaté dans l'essence de carotte, dont le produit analysé rappelle nettement l'odeur, ainsi que Pécout l'avait déjà remarqué, la présence d'un terpène bouillant à 159°-160° et qui paraît être du pinène.

RECHERCHE DES ALDÉHYDES. — Deux centimètres cubes d'essence ont été agités dans un tube à essai avec du réactif de Tollens et le tube abandonné au repos. Au bout d'une demi-heure, il s'est formé un précipité noir d'argent réduit : après douze heures, on constate la formation sur la paroi du tube de taches brillantes constituant un miroir d'argent. L'essence contient donc une certaine

(1) *Bulletin de Schimmel*, 1890, octobre 53.

quantité de composés réducteurs du groupe des aldéhydes.

Dans le but de déterminer la proportion de ces matières aldéhydiques, cinq grammes d'essence ont été agités avec une solution concentrée de bisulfite de soude et le mélange abandonné à basse température pendant cinq jours. Au bout de ce temps, il ne s'est pas formé de cristaux, mais la solution bisulfitique s'est nettement colorée en jaune. Ce liquide, séparé par décantation d'avec le reste de l'essence, a été chauffé avec du carbonate de soude à 70°. Il s'en sépare quelques gouttelettes huileuses, qui, après lavage à l'eau, réduisent nettement le réactif de Tollens.

L'essence d'*Echinophora spinosa* contient donc une petite quantité d'aldéhydes, trop faible pour être dosée.

RECHERCHE DES ÉTHERS. — INDICE DE SAPONIFICATION. — 2 gr. 109 d'essence ont été chauffés pendant une demi-heure au réfrigérant à reflux avec 25 cent. cubes d'une solution alcoolique demi-normale de potasse. Au bout de ce temps on a déterminé la quantité de potasse non combinée, au moyen d'une solution demi-normale d'acide sulfurique.

Les résultats sont les suivants :

Sol N/2 de KOH.....	25 ^{cc}
Sol N/2 de KOH.....	22 ^{cc} 7
Différence.....	2 ^{cc} 3
Poids de potasse employée à la saponification	0,0644
Potasse en milligrammes employée pour saponifier un gramme d'essence.....	30,4

L'essence contient donc une minime quantité d'éthers.

Les essais ci-dessus ont épuisé la petite quantité de matière dont nous avons pu disposer.

CONCLUSIONS

1° L'étude qui précède comprend l'analyse chimique complète de la matière grasse de l'*Echinophoru spinosa* et un examen physicochimique de l'essence de la même plante.

2° La matière grasse a une densité de 0,9771 ; son indice de réfraction est de 1.5005. Son indice d'acidité = 26,8 ; l'indice de saponification = 108,8 ; l'indice d'iode a comme moyenne 133,32.

3° Cette matière est constituée essentiellement par un mélange de glycérides des acides palmitique, myristique, oléique et linoléique.

4° Elle contient une phytostérine fondant à 118°, dont on a pu préparer les éthers acétique, point de fusion 124-125° ; propionique, point de fusion 117°, et benzoïque, point de fusion 145°.

5° Elle ne contient pas d'autre alcool gras que la glycérine.

6° L'essence a une densité égale à 1,031 et un indice de réfraction égal à 1,518.

7° Elle n'est ni sulfurée, ni azotée,

8° Elle contient une petite quantité d'aldéhydes et d'éthers et une proportion assez notable de carbures qui paraissent appartenir au groupe des terpènes.

9° Ce caractère chimique la rapproche de l'essence de carotte qui appartient à la même famille botanique que l'*Echinophora spinosa* et dont le produit examiné possède nettement l'odeur.

VU BON A IMPRIMER :
Montpellier, le 3 février 1908.
Le Président de la thèse,
G. MASSOL.

Vu et approuvé :
Montpellier, le 3 février 1908.
Le Directeur de l'Ecole,
G. MASSOL.

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, le 3 février 1908.
Le Recteur :
ANT. BENOIST.

